

Chapitre VII : structures et compositions des membranes cellulaires et des membranes des organelles

Les membranes cellulaires sont des doubles couches phospholipidiques dans lesquelles s'insèrent de manière **asymétrique** et **inhomogène** d'autres structures les caractérisant.

La membrane délimitant la cellule est appelée **membrane plasmique** et les membranes des organites sont appelées par le nom de l'organite concerné (membrane nucléaire, membrane mitochondriale, etc.).

En microscopie électronique on observe une tri-lamination de la membrane : un **feuillet clair** de 3 nm (environ 2 fois la longueur d'une chaîne d'acide gras) entouré par 2 **feuillets sombres** de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ **8 nm**. Ceci a permis de mettre en évidence la structure en bicouche phospholipidique de la membrane plasmique.

I) Fonctions des membranes biologiques

- La compartimentation (séparation de l'extérieur et l'intérieur de la cellule).
- Les échanges d'information avec d'autres cellules. (récepteurs hormonaux, jonctions gap).
- La régulation du transport des ions, protéines, sucres, graisses, etc..
- Les mouvements cellulaires (pseudopodes, endocytose- exocytose).
- Les phénomènes de reconnaissance (antigène de surface).
- La régulation du métabolisme (transduction intracellulaire des signaux extracellulaires).
- Procure un site pour les réactions chimiques ne pouvant pas se produire dans un environnement aqueux.

II) Composition des membranes

Les membranes sont constituées (en poids sec de membrane) de **40%** de **lipides**, **52%** de **protéines** et **8%** de **glucides**. En prenant en compte la différence de poids existant entre ces classes de molécules, on compte **50 molécules de lipides par molécule de protéine**.

1) Diversités des lipides membranaires

Au sein de la membrane les lipides sont présents sous différentes formes ; parmi elles on compte les phospholipides, les glycolipides et le cholestérol.

a) Phospholipides

Les phospholipides présentent tous une tête hydrophile (phosphate et groupement spécialisé) et une queue hydrophobe (glycérol et acides gras). On distingue deux types de phospholipides :

- Les **glycérophospholipides** correspondent à l'association de glycérol, de deux acides gras, d'un acide phosphorique et d'alcools ou d'acides aminés. Les alcools ou les acides aminés donnent l'identité et la caractéristique du glycérophospholipides. Parmi les acides aminés on trouve la sérine et parmi les alcools on trouve l'inositol, l'éthanolamine et la choline ; on obtient ainsi la

phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-inositol, la phosphatidyl-éthanolamine et la phosphatidyl-choline.

- Les **sphingophospholipides** correspondent à l'association de sphingosine, d'acide gras, d'acide phosphorique et d'alcool ou d'acides aminés ; on obtient ainsi la sphingomyéline (par association de la choline).

b) Glycolipides

Les glycolipides sont de deux types, on trouve les **glycéroglycolipides** et les **sphingoglycolipides**. Il est intéressant de préciser que les glycolipides des membranes des érythrocytes (globules-rouges), définissent le groupe sanguin de l'individu.

c) Cholestérol

Le cholestérol est uniquement présent dans les membranes des cellules animales, en effet, il est absent des cellules végétales et des bactéries. Le cholestérol est composé d'un noyau stéroïde hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile. La molécule est donc amphiphile, représente environ un quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire.

2) Diversités des protéines membranaires

Les protéines membranaires ont des rôles bien spécifiques au sein de la double couche phospholipidique : récepteurs, transporteurs, adhérence cellulaire, catalyse enzymatique, messagers intracellulaires, etc. Chaque protéine possède une extrémité N-terminale et une extrémité C-terminale. Les protéines sont ancrées de différentes manières dans la membrane.

a) Les protéines extrinsèques

Les protéines extrinsèques sont localisées en dehors de la bicouche phospholipidique et sont ainsi soit entièrement intracellulaire, soit entièrement extracellulaire. Elles interagissent avec la membrane, par des liaisons électrostatiques de types liaisons hydrogènes et liaisons de Van der Waals, au niveau de domaines caractéristiques de protéines transmembranaires ou de lipides. Ces interactions étant faibles, elles sont rompues facilement par des variations de forces ioniques et de pH.

b) Les protéines ancrées dans des acides gras

Les protéines périphériques ancrées dans les lipides sont de deux types :

- Ancrées sur les **glyco-phosphatidyl-inositol (GPI)** qui correspondent à l'association d'une phospho-éthanol-amine sur des sucres, eux-mêmes ancrés sur un phosphatidyl-inositol. Ces protéines sont présentes sur la face extracellulaire de la membrane.
- Ancrées à la membrane par l'intermédiaire d'acide gras (acide palmitique et acide myristique). Ces protéines sont présentes sur la face intracellulaire de la membrane.

c) Les protéines transmembranaires

Les protéines transmembranaires traversent les deux feuillets de la membrane. Ces protéines sont liées de manière stable à la membrane avec l'environnement hydrophobe de la face interne de la membrane, par les acides aminés apolaires de leurs hélices α . Elles ne peuvent ainsi être séparées de la double couche phospholipidique (et donc étudiées) que par l'action de détergents.

3) Fonctions des protéines membranaires

La première des fonctions des protéines membranaires est :

1. Structurer la membrane.

Les protéines de structure peuvent être intrin- ou extrinsèques. Elles peuvent renforcer la stabilité mécanique de la membrane, donner une forme à la membrane etc.

2. Enzymes membranaires :

Catalysent les réactions biochimiques dans ou à la surface de la membrane.

La possibilité d'avoir des ribosomes collés les uns aux autres sur une seule surface de la membrane est un avantage biochimique.

3. Les récepteurs :

Ils sont en général des protéines transmembranaires, ils se lient à une molécule d'un côté de la membrane puis ils cherchent simplement à accrocher la mol à la membrane, soit ils peuvent transmettre une info de l'autre côté de la membrane après liaison de la molécule. Parfois on peut avoir un récepteur formé d'une protéine transmembranaire associée à une protéine extrinsèque.

4. Canaux, pores, transporteurs...

Ce sont toujours des protéines à plusieurs domaines transmembranaires. L'ensemble de ces différents types de protéines existent dans toutes les membranes cellulaires. Mais dans les échanges entre la cellule et le milieu environnant, ce sont surtout les protéines de la membrane plasmique qui ont donc un rôle particulièrement important.

4) Origine des protéines membranaires

D'où viennent les protéines membranaires ? Cela dépend de la membrane à laquelle on s'intéresse.

1. Protéines synthétisées par des ribosomes liés :

Ce sont les ribosomes associés au niveau de la membrane du RE. Ils fabriquent des protéines qui vont s'ancrer et traverser la membrane en même temps qu'elles sont synthétisées. Les protéines qu'ils synthétisent peuvent être membranaires ou solubles, mais elles pénètrent dans la lumière du RE au fur et à mesure de leur synthèse. Elles vont ensuite être renvoyées dans différents compartiments membranaires par le trafic membranaire.

2. Protéines synthétisées par des ribosomes libres :

Ils synthétisent les protéines de différents types de compartiment :

- Les protéines qui restent dans le cytosol.
- Les protéines destinées à être importées dans le noyau.
- Les protéines ancrées par un AG sur le feuillet cytoplasmique de la membrane.
- Les protéines membranaires de certains organites :

4) Le glycocalyx

C'est l'ensemble des oligo-saccharides présent sur une membrane. Surtout sur la membrane plasmique. Il forme une véritable forêt à la surface de la cellule et est l'équivalent d'une barrière de protection. Dans le tube digestif, il est très développé et permet de maintenir à distance les bactéries présentes naturellement dans le tube digestif. Des sucres peuvent être reconnus soit par d'autres sucres soit par des protéines. Ces oligosaccharides peuvent jouer un rôle de reconnaissance de cellule à cellule ou autre, et être reconnus par des agents pathogènes. Le glycocalyx est composé à la fois **des glycolipides et des glycoprotéines**.

A) les glycolipides

- Le premier glucose est rajouté dans le RE
- Tous les autres sucres sont rajoutés au niveau de Golgi.
- Ces sucres sont rajoutés sur la face exoplasmique de la membrane, dans la lumière de Golgi.

B) les glycoprotéines

La première étape de l'association de certains oligosaccharides sur des glycoprotéines se fait en même temps se fait en même temps que la synthèse de la protéine. Ils se trouvent sur la face exoplasmique de la membrane que la protéine soit extrin- ou intrin-.

1. Oligosaccharides O-liés

- Sont ajoutés sur le groupement OH d'une sérine ou d'une thréonine.
- Le premier sucre ajouté est en général un galactose, mais on peut avoir des variantes du galactose.
- L'ajout des oligosaccharides O liés se fait entièrement au niveau de Golgi.

2. Oligosaccharides N-liés

- Ils sont ajoutés sur le groupement amine d'une asparagine.
- Une structure est transférée en bloc au niveau de la lumière du RE à l'asparagine.
- Cette structure va subir un certain nombre de modifications au cours du transport de la protéine au sein de l'AdG et on obtient trois grands types d'oligosaccharides N liés :
 - Les oligosaccharides oligomannosidiques.
 - Les oligosaccharides complexes.
 - Les oligosaccharides intermédiaires.

III) Propriétés des membranes

1) Auto-assemblage des lipides

Les phospholipides, dus à leurs propriétés physico-chimiques, s'assemblent de manière automatique en différentes sortes de structures suivant l'environnement :

- Les **monocouches** sont des couches mono-moléculaires dont les têtes hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux et les queues hydrophobes vers le milieu lipidiques.
- Les **micelles** sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse).
- Les **bicouches phospholipidiques** permettent la formation de vésicules sphériques appelées **liposomes**. Les bicouches phospholipides rentrent dans la formation des bicouches membranaires.

Pour information, les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses.

2) Asymétrie membranaire

-On a mentionné plusieurs fois que les sucres étaient ajoutés d'un seul côté, que les protéines glypiées étaient sur la face cytoplasmique, les protéines ancrées par des ancras lipidiques étaient sur la face exoplasmique.

-Le cholestérol est présent en quantités équivalentes sur les deux feuillets des membranes. Mais ce n'est pas le cas des autres lipides membranaires.

-Les glycosphingolipides (GSL) sont ajoutés dans la lumière de Golgi, ce qui fait qu'ils sont sur le feuillet exoplasmique des membranes et on ne les trouve pas sur le feuillet cytoplasmique.

- Le feuillet exoplasmique des membranes est riche en PC et en sphingomyéline (GSL).
- La PE et la PS sont enrichis sur le feuillet cytoplasmique des membranes.

Le fait que ce soit enrichi d'un côté et pas de l'autre fait que les feuillets présentent des compositions différentes et par conséquent des propriétés différentes.

-Cette asymétrie de la membrane est maintenue par le fait que le FLIP-FLOP, c'est-à-dire le passage d'un feuillet à l'autre est RARE spontanément. Ce flip flop peut être catalysé par une FLIPASE qui ont pour fonction soit de ramener les lipides qui sont sur le mauvais feuillet à leur feuillet d'origine, soit au cours de la synthèse de transporter les lipides de façon à ce qu'ils atteignent leur feuillet correct de destination.

-Ces lipides sont synthétisés au niveau du RE et évidemment ils doivent être transportés vers les autres membranes.

- Tous les compartiments qui sont en relation avec le RE par le trafic membranaire vont recevoir leurs lipides par le trafic membranaire.

- Pour les autres, c'est plus compliqué, il existe des protéines capables d'extraire les lipides des membranes et de les transporter. Pour que le cycle soit complet, il faut que la protéine soit capable de revenir à vide mais cette étape là n'est pas encore démontrée.

-Les protéines membranaires sont incapables de fli-flop, elles sont insérées dans un sens dans la membrane et y restent. La partie cytoplasmique est toujours la même, idem pour la partie exoplasmique. Cela contribue à l'asymétrie.

-De plus, on a vu que les oligosaccharides sont transportés sur les protéines dans la lumière du RE, ils y sont également modifiés, par conséquent ils sont toujours sur le feuillet exoplasmique.

3) Fluidité membranaire

-Ces membranes ne sont pas rigides mais fluides. La fluidité conditionnée par trois facteurs :

- la température (accélère les mouvements),
- la quantité de cholestérol (diminue la fluidité),
- la nature des phospholipides.

1. Les différents types de mouvements :

-Les lipides sont doués d'un mouvement de rotation (sur place), de déplacement au sein de la membrane (diffusion latérale) et le flip flop (changement de feuillet avec basculement, favorisé par des flipases avec

consommation d'énergie sous forme d'ATP). Ils se déplacent rapidement à des vitesses de 10-8cm²/s. Il faut une seconde à un lipide d'une extrémité à l'autre d'une bactérie, et 20 secondes pour une cellule eucaryote.

Les protéines ne peuvent pas faire ce flip flop mais elles sont aussi capables de bouger dans cette membrane par rotation, diffusion latérale. Le capping (formation d'une petite coiffe), on marque la surface membranaire avec des anticorps fluorescents, les protéines sont marquées de façon diffuse, on observe rapidement des mouvements de ces protéines et des agrégats à certains endroits formant des coiffes à un pôle de la cellule. Au bout d'un certain temps la fluorescence disparaît et se concentre à l'intérieur du cytoplasme. Ce phénomène nécessite et consomme de l'énergie sous forme d'ATP. Ce phénomène peut être bloqué cinétiquement par le froid, ou artificiellement par des poisons métaboliques au niveau des mitochondries.

Le fait que les protéines au niveau de la membrane soient accrochées aux protéines d'autres cellules va limiter les déplacements. Il y a des phénomènes qui régulent et limitent la diffusion des protéines de la membrane :

- Diffusion latérale des protéines limitant les mouvements du cytosquelette ;
- Interaction de la membrane plasmique avec la matrice extracellulaire ;
- Interaction avec des protéines membranaires ; c'est-à-dire qu'elles s'accrochent entre elles, ce qui peut limiter les déplacements membranaires.

2. Nature des phospholipides

-Les acides gras insaturés facilitent la fluidité, les acides gras saturés assurent la rigidité de la membrane.

-Les chaînes carbonées qui n'ont pas de double liaison seront très fluides à une certaine température.

Si on abaisse la température, les chaînons hydrocarbonés vont se ranger les uns contre les autres et la membrane devient solide. C'est **l'état de gel (rigide)**. Les chaînes grasses sont quasiment cristallisées (très bien ordonnées). On peut repasser à **l'état de sol (fluide)** en augmentant la température.

La température à laquelle se fait ce passage est appelée **température de fusion**. Elle est très proche de notre température physiologique quand les acides gras sont saturés.

- Pour une PC avec 2 acides gras à 16 C saturés : la température de fusion est de 41° C. A 37°C, nous serions à l'état de gel.

- Même PC mais avec 2 AG comportant 16 C et une double liaison, la double liaison ne permet pas aux chaînons hydrocarbonés de s'organiser de façon autant cristalline qu'en temps normal. La température de fusion est à ce moment-là beaucoup plus basse, de l'ordre de -60°C. A 37°C, la membrane est très fluide, voire trop.

3. La quantité de cholestérol

-Dans la membrane, on a beaucoup de cholestérol [phospholipides/chol. ~ 1 dans certaines membranes]. Effectivement, plus la teneur en cholestérol augmente, plus la fluidité membranaire diminue. C'est apparemment un simple effet d'encombrement : le cholestérol, avec sa forme en raquette rigide, gêne les mouvements des autres molécules, en particulier des phospholipides membranaires. Moins de mouvement, donc moins de fluidité... : à température physiologique, le cholestérol rigidifie les membranes. Par contre, à basse température, le cholestérol retarde la transition sol/gel des lipides, en les empêchant d'interagir entre eux par interaction de van der Waals lorsqu'ils se rapprochent les uns des autres : à basse température, le cholestérol a un effet plutôt fluidifiant.

-Le cholestérol joue un rôle de **tampon de la fluidité membranaire**.

IV) Les radeaux lipidiques

L'étude des bicouches lipidiques a longtemps suggéré une distribution non uniforme des lipides dans les membranes cellulaires. Après de nombreuses controverses, l'existence de micro-domaines particuliers au sein de la membrane plasmique est aujourd'hui admise. Ces micro-domaines, ou radeaux lipidiques, se distinguent du reste de la membrane par leur composition lipidique et protéique ainsi que par des propriétés physiques différentes.

Définition

Un radeau lipidique (**en anglais, lipid raft**) ou **raft lipidique** est un microdomaine de la membrane plasmique, riche en cholestérol et en sphingolipides. Il se caractérise par sa faible densité (flottabilité sur un gradient de densité) et son insolubilité dans des détergents doux, d'où l'autre nom technique parfois utilisé : detergent-resistant membrane.

La nomenclature utilisée est assez vaste et prête souvent à confusion. Les micro-domaines membranaires ou radeaux lipidiques ont aussi été appelés DIG (*detergent-insoluble glycolipid-enriched complexes*), DRM (*detergent-resistant membrane complexes*) ou encore GEM (*glycosphingolipid-enriched membrane complexes*) pour ne citer que les termes les plus usités.

Les radeaux lipidiques sont des structures rigides dans la membrane et constituent des zones privilégiées pour l'activité de certaines protéines qui y sont intégrées. Ainsi, les protéines du complexe SNARE, indispensable à la fusion des membranes dans l'exocytose, sont associées au cholestérol. Ils forment ainsi des sites privilégiés pour la libération des neurotransmetteurs et donc pour la propagation de l'influx nerveux. Ils ont un rôle essentiel dans la signalisation cellulaire en permettant la concentration des protéines et notamment des récepteurs comme celui de l'insuline.

Les radeaux lipidiques sont situés dans le feuillet exoplasmique de la membrane cellulaire. Leur taille estimée est de 50 nm de diamètre, rendant leur observation directe impossible en microscopie optique. Ils contiennent approximativement 3 500 molécules de GSL et 10 à 50 protéines. La nature exacte des lipides constituant le feuillet cytoplasmique de ces micro-domaines n'est pas encore connue. Il pourrait s'agir de lipides à longues chaînes d'acide gras saturées et de cholestérol qui favoriseraient l'assemblage des radeaux. Les feuillets interne et externe seraient couplés par l'intermédiaire des longs acides gras des GSL du feuillet externe interdigitant avec les lipides du feuillet interne. Ces micro-domaines, ainsi constitués de façon compacte, sont entourés de zones de plus grande fluidité formées de phospholipides insaturés comme la phosphatidylcholine. Ce sont, malgré leur rigidité relative, des structures dynamiques à l'intérieur desquelles les lipides conservent une mobilité latérale et rotatoire ; les lipides ont également la possibilité d'entrer ou de sortir du micro-domaine.

Les radeaux lipidiques sont dispersés uniformément à la surface des cellules non polarisées. À titre d'exemple, les micro-domaines représentent approximativement 30 % de la surface cellulaire des lymphocytes T (LT). En revanche, ils sont répartis de façon spécifique dans les cellules polarisées. Ils jouent un rôle dans l'établissement et le maintien de cette polarité.

Les *Caveolae* représentent une sous-catégorie particulière de micro-domaines associée à la présence de la **cavéoline**, une protéine liée au cholestérol et à la sphingomyéline.

Principaux rôles biologiques des radeaux lipidiques

Les micro-domaines lipidiques présents dans l'appareil de Golgi serviraient à la fois de « **centres de tri** » et de transporteurs pour des protéines destinées à la membrane plasmique. Dans la cellule, deux principales voies coexistent pour guider les protéines jusqu'à la membrane : l'adressage peut être réalisé grâce à des signaux contenus dans le domaine cytoplasmique des protéines et met en jeu des transporteurs protéiques ; c'est la voie des protéines transmembranaires et sécrétées. Alternativement, les radeaux peuvent constituer des plates-formes de transport. Les signaux d'adressage sont alors soit des modifications post-traductionnelles permettant l'ancrage aux radeaux (association au GPI, myristylation, palmitoylation...), soit une N-glycosylation reconnue par des lectines associées aux radeaux lipidiques. **Les micro-domaines membranaires sont aussi à l'origine de voies d'endocytose clathrine-indépendantes et de voies de transcytose.** Ce processus implique des invaginations membranaires peu profondes et endocyte des protéines ancrées au GPI. Ces voies sont encore assez méconnues.

Les micro-domaines membranaires possèdent un rôle central dans **l'initiation des cascades de transduction de signal**. Les radeaux membranaires constituent ainsi des « stations-relais » pour les voies de transduction de signal. Ils sont un lieu de concentration des récepteurs, facilitant les interactions avec leurs effecteurs et évitant les interférences avec d'autres voies. L'oligomérisation des récepteurs suite à une stimulation par un ligand augmente leur affinité pour les radeaux. Les récepteurs sont alors recrutés par ces radeaux, qui eux-mêmes se regroupent en larges domaines de 300 nm. Ce phénomène a pour conséquence de placer les récepteurs dans un micro-environnement différent et de modifier la répartition des protéines entre les radeaux et le reste de la membrane. Les récepteurs sont ainsi mis en contact avec des kinases présentes dans les radeaux et sont protégés de phosphatases comme le CD45 qui en sont exclues. Ce processus permet d'amorcer la cascade de phosphorylation.

Les micro-domaines sont utilisés par certains agents pathogènes pour pénétrer dans la cellule. Ces domaines, impliqués par ailleurs dans la transduction du signal, permettent ainsi une communication entre l'agent pathogène et la cellule. Ces échanges de signaux peuvent être profitables à l'agent pathogène en induisant un état d'activation cellulaire favorable à sa survie et à son développement. Les informations communiquées sont aussi utilisées par la cellule pour induire une réponse inflammatoire. Ainsi, *Escherichia coli* entre dans les mastocytes par cette voie ; *Plasmodium falciparum* utilise les domaines *Caveolae*; la conversion de la protéine du prion en son isoforme pathogène se ferait aussi au niveau des *Caveolae*; la toxine cholérique pénètre dans les cellules au niveau des micro-domaines ; pour entrer dans la cellule, le virus non enveloppé SV40 se lie au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui est ancré aux radeaux lipidiques par le GPI. À un stade tardif du cycle viral, les virus enveloppés comme le virus de la rougeole, le virus de la grippe, le virus de la forêt de Semliki (VFS) et le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) assemblent et libèrent leurs virions au niveau des radeaux. Enfin, les radeaux lipidiques seraient impliqués dans l'infection par le VIH1.